

Evaluación de colágeno tipo I en dos razas ovinas a partir de muestras de músculo glúteo medio obtenidas *in vivo*

Blanco, M.R.¹⁻²; López, G.³; Peña, S.⁵; Abbiati, N.⁴; Rovegno, M.S.⁴; Marotta, P.²; González, A.³

¹ Cátedra de Anatomía y Fisiología Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, UNLZ. ² Cátedra de Industrias de la Cadena de la Carne, FCA, UNLZ. ³ Cátedra de Fisiología Animal, FCA, UNLZ. ⁴ Cátedra de Biometría, Facultad de Ciencias Agrarias, UNLZ. ⁵ Cátedra de Producción Animal II, FCA, UNLZ.

Resumen

La terneza es el factor de calidad de la carne más importante y más variable. Tradicionalmente, en las investigaciones para evaluar la terneza de la carne bovina se utilizan ya sea la cuchilla o guillotina de Warner-Bratzler, que mide la fuerza (resistencia) de corte del músculo estudiado, o paneles de catadores. Sin embargo, estos análisis insumen mucho tiempo, dinero y se realizan postmortem. Al igual que los otros parámetros que definen la calidad de la carne, la textura y terneza dependen de numerosos factores relacionados con la producción y el manejo previo y posterior al sacrificio. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la cantidad de colágeno intramuscular de tipo I en muestras de músculo Glúteo medio (músculo locomotor) obtenidas *in vivo*, en dos razas de la especie ovina, Texel y Criolla. Se empleó una muestra aleatoria de 10 animales de 2 años de edad de cada raza, utilizando la técnica histológica de Picrosirius-red modificada para obtener la cantidad de colágeno intramuscular de tipo I. En el músculo Glúteo medio en ovejas de dos años de edad, no se encontraron diferencias entre las razas Texel y Criolla en cuanto a las fibras colágenas (colágeno tipo I), tampoco se detectó correlación entre el peso y las fibras, siendo más pesadas las Texel.

Palabras clave: Colágeno I, Músculo, Terneza, Ovinos.

Summary

Tenderness is the most important quality factor and most variable. Traditionally, in investigations to evaluate bovine meat tenderness, they use a knife or a guillotine of Warner-Bratzler, which measures the strength (resistance) of the piece of muscle, studied, or panel tasters. However, this analysis spends much time, money and they are made post

INVESTIGACION

Blanco *et al.*

Evaluación de colágeno tipo I [...]

mortem. As the other characters that defines the quality of meat, texture and tenderness depends of several factors related with production and also with the previous and subsequent manipulates to sacrifice. The objective of the present study was to evaluate the quantity of intramuscular collagen from type I in samples of the middle gluteus (locomotive muscle) obtained "in vivo", in two breeds of sheep, Texel and Creole. It was used and random sample of 10 animals of 2 years old from each breed, using the histological technique of Picrosirius-red modified to obtain the quantity of collagen intramuscular from type I. In the middle gluteus muscle from sheep of two years old, no differences were found between Texel or Creole breeds in order to the collagen fibres (collagen Type I), neither were detected correlation in weight and fibres, being more heavy the Texel.

Key words: Collagen I, Muscle, Tenderness, Sheep.

Introducción

La terneza es considerada el atributo más importante en la palatabilidad de la carne, siendo una característica de gran impacto económico debido a que incide en la reiteración de compra por parte de los consumidores (Blanco, 2004). Sin embargo, es muy difícil homogeneizar esta característica, es decir poder garantizarle al consumidor un mismo nivel de terneza, debido principalmente a que depende de muchos factores que actúan en forma aislada y/o combinada, lo que la hace altamente variable.

Es importante conocer las exigencias de los consumidores que integran los mercados a los que se destina el producto, con el fin de crear y ajustar protocolos estrictos de calidad en nuestros sistemas de producción, teniendo en cuenta la especie, la raza de los animales, su edad, la alimentación, las condiciones de transporte, de faena, temperatura ambiente, tiempos de maduración, tipo de envasado, etc., que directa o indirectamente pueden hacer variar la terneza.

Existe una muy baja correlación entre la apariencia visual de la carne y su calidad al momento de ser consumida. La satisfacción del consumidor con el producto (y su impulso a comprarlo nuevamente) queda definida al momento de consumir la carne, mientras que la elección durante la compra queda definida por su apariencia visual (color, contenido de grasa). En consecuencia, a veces, el consumidor selecciona carne que no satisface sus exigencias al momento del consumo (Russell *et al.*, 2005).

A diferencia de otros atributos detectables en el animal vivo, la terneza, hasta el presente, no es verificable sino hasta después de la faena. Por lo tanto el acceso a una metodología de selección de reproductores por medio de marcadores proveería a los criadores de una herramienta de selección objetiva, sin tener que esperar a la faena del animal o a obtener su descendencia para realizar pruebas de progenie (Blanco, 2004; Blanco y Alonso, 2010; Teira, 2004).

El tejido conectivo intramuscular (TCI) es de tipo fibroso y además de unir las fibras musculares, conduce vasos y nervios y se divide en tres grupos o dominios: el epimio, que se encuentra rodeando a los músculos periféricamente; el perimio, que se

INVESTIGACION

Blanco *et al.*

Evaluación de colágeno tipo I [...]

encuentra envolviendo a varias fibras musculares y forma con ellas los haces o fascículos y el endomisio, que envuelve a cada una de las fibras musculares y las une entre sí (Fernández Surribas y Von Lawzewitsch, 1997). A diferencia del perimisio y del endomisio, el epimisio puede ser separado fácilmente del músculo, sin embargo no se lo tiene en cuenta en la valoración de la textura de la carne. El perimisio constituye el 90% del TCI y a las variaciones de su constitución se le atribuyen las diferencias halladas en relación con la calidad de la carne. El papel del endomisio no ha sido todavía bien estudiado en cuanto a la textura y terneza de la carne (Soría y Corva, 2004).

El colágeno es la proteína que predomina en el perimisio y endomisio, constituyendo cerca del 1,6 a 14,1% de la materia seca del peso del músculo (Purslow, 1999). La cantidad y distribución del TCI presenta variaciones de acuerdo al desarrollo muscular, crecimiento y especialmente función (Purslow, 2005).

Las fibras que contienen colágeno de tipo I (fibras colágenas) y aquellas ricas en colágeno de tipo III (fibras reticulares) son el mayor componente del TCI y su importancia radica, con respecto a la calidad de la carne, en que un elevado contenido de las mismas afecta la terneza como también el valor biológico de la proteína cárnica (Bosselmann *et al.*, 1995).

Estudios realizados en bovinos han reportado que un incremento en la proporción de colágeno de tipo III en el TCI se asocia en algunas instancias a músculos más duros (Bailey *et al.*, 1988), en otras a músculos más tiernos (Burson *et al.*, 1986) y en otras se determina que no hay cambios en la textura de la carne (Ligth *et al.*, 1985). Las fibras que contienen colágeno de tipo III son más pequeñas en diámetro que las que contienen colágeno de tipo I, por lo tanto podrían presentar menor resistencia a la fuerza de corte (Bailey, 1988). Los tejidos fetales o neonatales son ricos en colágeno de tipo III en la mayoría de los tejidos incluyendo el músculo esquelético; luego se produce una modificación con la edad cronológica, incrementándose la cantidad de colágeno de tipo I (Kovanen y Suominen, 1989).

El conocimiento de los cambios en la textura que ocurre en la carne de los animales con el crecimiento y la maduración están más directamente correlacionados con la maduración progresiva del colágeno muscular. Es evidente que la maduración del colágeno y concentración de enlaces (crosslink's) en los músculos se incrementa con la edad en todas las especies, pero hay excepciones, por ejemplo en el músculo semitendinoso que posee niveles altos de colágeno (Dransfield, 1977) pero moderados o bajos niveles de crosslink's (Ligth *et al.*, 1985). En toros, el colágeno "total" medido en el músculo Longuissimusthoracis (LT) se incrementa con la edad hasta los 11 o 12 meses y posteriormente descende a partir de los 18 a 19 meses, si bien la solubilidad del colágeno constantemente descende con la edad, (Cross *et al.*, 1984, Maltin *et al.*, 1998). Según el trabajo de Blanco y Alonso (2007), quienes tomaron muestras de animales in vivo, las fibras de colágeno de tipo I entre los músculos del glúteo medio (GM) y LT, han mostrado diferencias sólo a los 12 meses de edad en bovinos. Cuando se estudió el músculo GM, no se observaron diferencias en las fibras tipo I en las edades 18, 24 y 36 meses.

La cantidad de colágeno total, medido por métodos bioquímicos, varía poco con la edad de los animales pero el grado de reticulación y la cantidad de fibras que lo contienen

INVESTIGACION

Blanco *et al.*

Evaluación de colágeno tipo I [...]

umentan con la edad (disminuye la solubilidad). Esto explica que la carne de los animales adultos sea más dura que la de los jóvenes. La estabilidad mecánica y química de las fibras que contienen colágeno se incrementa con la edad cronológica (Sinex, 1968, Robins *et al.*, 1973). La estabilidad mecánica de TCI depende no solamente de los eslabones entrecruzados de colágeno sino también del tamaño y disposición u ordenamiento de las fibras de colágeno (Rowe, 1981).

La terneza varía principalmente por dos causas: las fibras musculares y el tejido conectivo que las rodea. La mayor parte de los estudios realizados se han centrado en las fibras musculares: tipos, estado contráctil, degradación, etc., o sobre el colágeno total y la solubilidad del mismo, realizándose todos post-mortem. El método de Warner-Bratzler (WB) es una metodología utilizada para evaluar la terneza cuantitativamente, que mide la fuerza (resistencia) de corte del músculo estudiado, pero esta técnica ha sido muy cuestionada debido a sus resultados contradictorios (Soria y Corva, 2004). Otra técnica muy empleada es a través de paneles entrenados de catadores pero la técnica es cara, tediosa, subjetiva y la comparación entre resultados es dificultosa. Esto se debe a diferencias entre las preferencias o gustos de los consumidores, distinta percepción sensorial entre individuos, diferencias por etnia, sexo, edad, particularidades físicas, costumbres, localización geográfica, métodos de cocción y preparación de la carne poco estandarizada, etc. (Blanco, 2004; Blanco y Alonso, 2010).

Con relación al stock ovino de Argentina el mismo se redujo, alcanzando en 2002 el mínimo valor histórico. Recuperándose en 2006, momento en el cual las existencias se estimaron en 15,5 millones de cabezas.

A diferencia del sector vacuno, que cuenta con un mercado de referencia como lo es el Mercado de Hacienda de Liniers, el sector ovino no cuenta en la actualidad con un mercado de tales características. Hoy en día para la venta de ovinos en pie se continúa utilizando los canales de comercialización tradicionales de remates regionales y venta directa de estancia. La producción de carne ovina, a partir del siglo XX, ha tenido el comportamiento de una actividad secundaria con una alta dependencia del precio internacional de la lana. Consecuencia de esto es también la selección de las razas con un perfil más de doble propósito (lana/carne) (Área de Mercados Ganaderos con datos de la Dirección de Ganadería de la SAGPyA).

La carne ovina producida en el país se destina principalmente al consumo interno. Con respecto a la exportación, el principal destino es España, le sigue en importancia Gran Bretaña, (Área de Mercados Ganaderos con datos de la Dirección de Ganadería de la SAGPyA).

El **objetivo** de este trabajo fue determinar la cantidad de fibras colágenas de tipo I, en el músculo Glúteo medio (GM) in vivo, en ovinos Texel y Criollo, por el método histológico de Picrosirius-red.

Materiales y métodos

Animales experimentales

Se emplearon para el estudio 10 ovejas de 2 años de edad de las razas: Criolla y Texel. Todos los animales fueron criados y alimentados sobre una pastura natural en el establecimiento "Santa Isabel", de la localidad de 25 de Mayo, Provincia de Buenos Aires. En el momento de tomar las muestras, las ovejas fueron pesadas mediante una balanza mecánica, luego de haber estado 12hs en ayuno.

Método histológico Picrosirius-red

Se realizó en cada animal (N=10) de cada raza, una biopsia en la región glútea, para obtener un cilindro de 2 cm del músculo glúteo (M. gluteus). Luego de la misma se realizó la sutura y aplicación de antibióticos.

Una vez obtenidas, las muestras fueron colocadas en solución fijadora de paraformaldehído al 4% en PBS (pH 7,0) durante 48 h. Una vez realizada la fijación se lavó el material con agua corriente durante 10 minutos. Luego se sometieron a la deshidratación mediante una batería de alcoholes en graduación creciente.

Una vez concluidos los pasajes por la secuencia de alcoholes, se realizó la inclusión de las muestras en parafina, y se prepararon los bloques con cada una. Posteriormente se efectuaron cortes, de esos bloques con las muestras, de 5-7 micras de espesor y se montaron sobre portaobjetos. Una vez montados se procedió a la tinción de las muestras de tejido con el método de picro-sirius red modificado (Montes, 1996). A tal efecto se desparafinaron los cortes; para ello se pasaron los portaobjetos con el material ya cortado por una batería decreciente de alcoholes. Se lavaron las muestras en agua corriente y se procedió al montaje de los portaobjetos y cubreobjetos con bálsamo de Canadá; se dejó secar en estufa para su posterior evaluación mediante microscopio con polarización y ocular con retículo, a fin de efectuar el recuento de fibras que contienen colágeno de tipo I. de cada preparado se realizaron 10 lecturas, considerándose el promedio para el análisis.

Análisis estadístico

Para el análisis de las variables obtenidas, cantidad (promedio) de fibras colágenas y peso de los ovinos, se emplearon análisis estadísticos exploratorios e inferenciales. El análisis exploratorio incluyó el Análisis de Componentes Principales para contemplar las correlaciones entre las mediciones realizadas sobre un mismo animal. El análisis inferencial contempló Análisis de Correlaciones y Análisis de Varianza, previo análisis de los supuestos (Cuadras, 2014; Peña, 2002).

INVESTIGACION

Blanco *et al.*

Evaluación de colágeno tipo I [...]

El procesamiento de los datos se realizó por medio del software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2016). En todos los casos se trabajó con un nivel de significación del 5%.

Resultados y Discusión

No se detectó correlación entre el peso y la cantidad de fibras de colágeno tipo I en ninguna de las dos razas (Criolla: $r = -0,08$, valor- $p = 0,8342$; Texel: $r = -0,25$, valor- $p = 0,4836$).

En el Análisis de Componentes Principales con dos componentes principales se capturó el 100% de la variabilidad de los datos. La primera componente (57%) representa un promedio de la cantidad de fibras colágenas y el peso, en cambio la segunda componente contrapone ambas variables. En el biplot se observa que permite una separación de ambas razas y que esa separación se debe básicamente al peso y no a la cantidad de fibras colágenas (Gráfico 1).

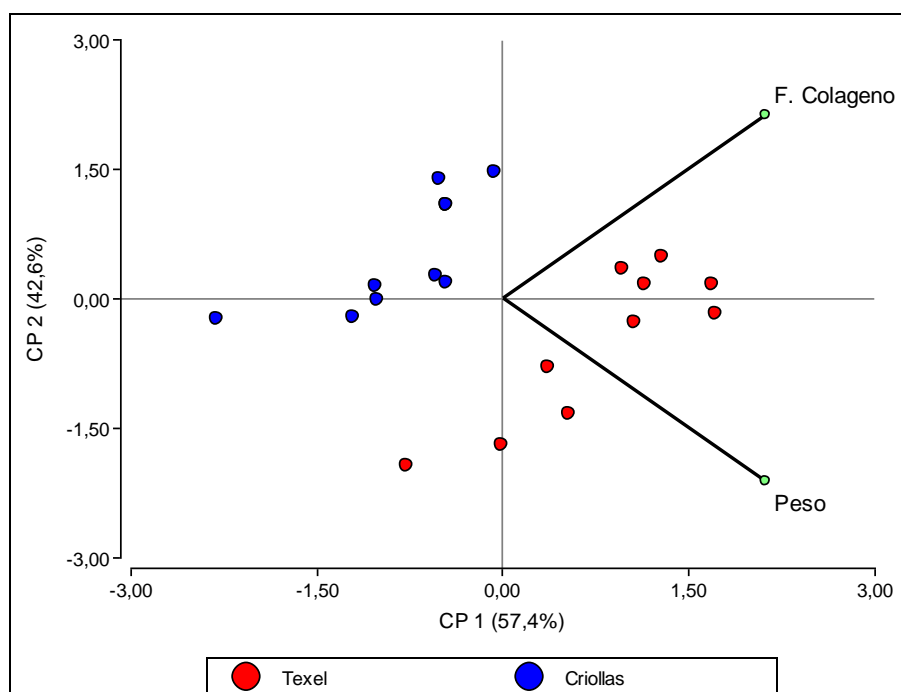


Gráfico 1. Biplot de las variables y los ovinos discriminados según raza.

El análisis de varianza no detectó diferencia entre ambas razas para las fibras de colágeno tipo I (valor- $p = 0,3706$); ver Gráfico 2).

INVESTIGACION

Blanco *et al.*

Evaluación de colágeno tipo I [...]

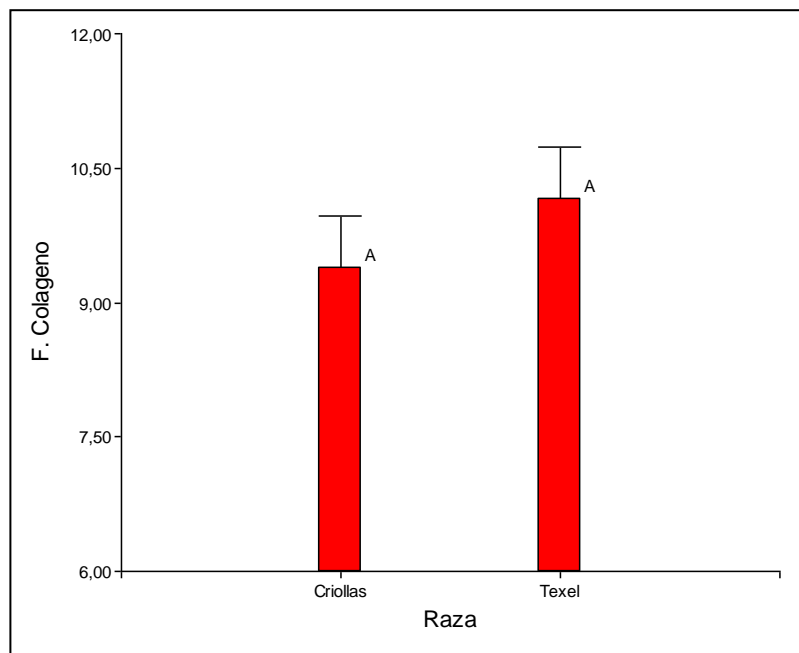


Gráfico 2: Resultado del análisis de varianza para la cantidad de fibras colágenas (promedios y errores estándares). Valores con igual letra no difieren.

Con relación al peso de los animales de ovejas Texel y Criolla podemos decir que existen diferencias entre ambas, siendo animales más pesados las ovejas Texel (valor-p <0,0001), ver Gráfico 3.

INVESTIGACION

Blanco *et al.*

Evaluación de colágeno tipo I [...]

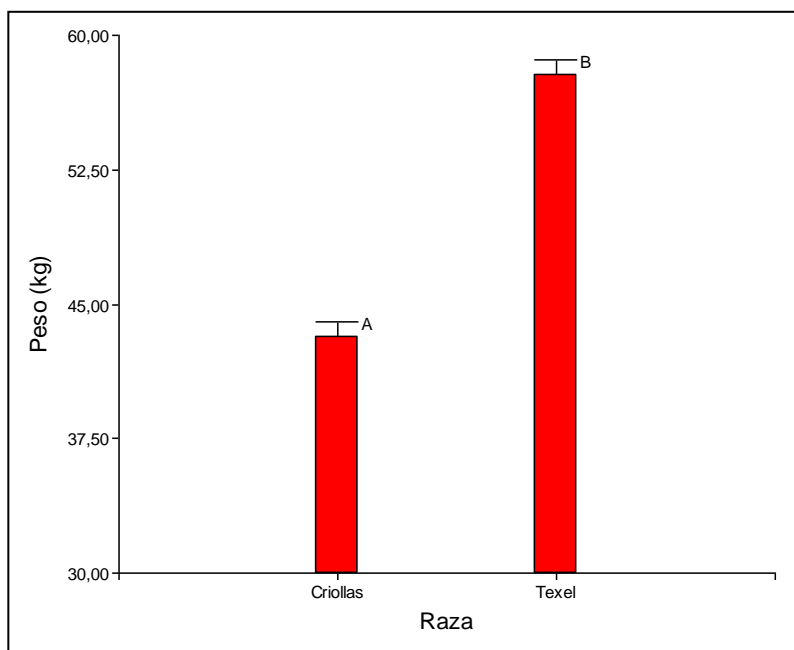


Gráfico 3: Resultado del análisis de varianza para el peso (promedios y errores estándares).
Valores con igual letra no difieren.

En función de que ambas razas no presentan diferencias en el número de fibras colágeno tipo I se infiere que su terneza es similar.

Utilizando otro método (WB) Safari *et al.* (2002) realizaron un estudio de terneza de la carne de cordero y observaron una gran variabilidad en los valores de dureza, concluyendo que una de cada cinco muestras evaluadas podría considerarse que no era lo suficientemente tierna para el consumidor australiano.

Hay marcadas diferencias en tipo y cantidad de fibras en el TCI entre diferentes músculos de un animal y entre animales, que influyen en la calidad y dependen de factores como ubicación corporal, edad sexo y raza (Essén-Gustawsson, 1995). En nuestro caso, para animales de dos años y misma masa muscular (GT) no hemos detectado diferencias entre las razas estudiadas.

INVESTIGACION

Blanco *et al.*

Evaluación de colágeno tipo I [...]

Así como la calidad sensorial de la carne es muy importante para los consumidores, la calidad de la res es de suma relevancia para los productores, para poder fijar mejor el precio del animal, el cual está basado hasta el presente, en su rendimiento y tipificación, posteriores a la faena. Por lo tanto es necesario incorporar otra metodología que permita evaluar el grado de terminación de los animales para enviarlos a la faena, su terneza y por ende su calidad, antes de que incidan sobre ella los procesos industriales (Blanco, 2004; Blanco *et al.*, 2007). Motivos por los cuales sería altamente beneficioso seguir utilizando la técnica histológica de Picrosirius-red modificada para evaluar otros músculos, por ejemplo LD,

Conclusiones

En el músculo Glúteo Medio en ovejas de dos años de edad, no se encontraron diferencias entre las razas Texel y Criolla en cuanto a la cantidad de fibras colágeno tipo I.

El peso de ambas razas difirió, siendo más pesadas las ovejas Texel.

No se correlacionaron el peso y la cantidad de fibras colágenas.

Bibliografía

Área de Mercados Ganaderos con datos de la Dirección de Ganadería de la SAGPyA y del SENASA. (2007).

Bailey, A.J. (1988). Proc. Intl. Congress Meat Sci. Tech. Part. A. Brisbane, Australia, 152.

Blanco, M.R. (2004). Valoración de la terneza de la carne bovina: influencia del colágeno de tipo I y III. *Cuadernos del CEAgro*, N° 6: 127-132.

Blanco, M.R. y Alonso C.R. (2007). Collagen Type I and III in bovine muscles. *Archivos de Zootecnia*, Vol.56, N° 214: 253-257.

Blanco, M.R. y Alonso, C.R. (2010). Collagen Type I and III in Bovine Muscles: Influence of Age and Breed. *Journal of Muscles Foods*, Vol. 21(3): 417-423.

Bosselmann, A., Möller, C., Steinhart, H., Kirchgessner, M., Schwarz, F.J. (1995). Pyridinoline cross-links in bovine muscle collagen. *Journal of Food Science* 60, N°5: 953-958.

Burson, D.E., Hunt, M.C., Unruh, J.A., Dikeman, M.E. (1986). Proportion of types I and III collagen in Longissimus collagen from bulls and steers. *Journal of Animal Science*, 63:453-456.

Cross, H.R., Schenbacher, B.D., Crouse, J.D. (1984). Sex, age and breed related changes in bovine testosterone and intramuscular collagen. *Meat Science*, 10: 187-195.

Cuadras, C.M. (2014). *Nuevos Métodos de Análisis Multivariante*. Barcelona: CMC Editions, España. Versión obtenida el 18/03/2015 <http://www.ub.edu/stat/personal/cuadras/metodos.pdf>

Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental Facultad de Ciencias Agrarias. UNLZ. Vol. 4 (1) 2017: 3-13

INVESTIGACION

Blanco *et al.*

Evaluación de colágeno tipo I [...]

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat. (2016). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Dransfield, E. (1977). Intramuscular composition and texture of beef muscles. *J. Sci. Food Agr.*, 28: 833-842.

Essén-Gustawsson, B. (1995). Effect of physical stress on muscle fibre characteristic. Relation to meat quality. Proceedings 2nd Dummerstorf Muscle Growth and Meat Quality, Rostock, 17-19, May, pp. 65-73.

Fernández Surribas J. y Von Lawzewitsch I. (1997). *Lecciones de Histología Veterinaria* Tomo 2. Ed. Hemisferio Sur. pp. 56.

Kovanen, V. y Suominen, H. (1989). Age and training related changes in the collagen metabolism of rat skeletal muscle. *Eur. Journal of Applied Physiology*, 58: 765-771.

Ligth, N.D., Champion, A., Voyle, C., Bailey, A.J. (1985). The role of epimysial, perimysial and endomysial collagen in determining texture in six bovine muscles. *Meat Science*, 13:137-149.

Maltin, C.A, Sinclair, K.D, Warriss, P.D, Grant, C.M., Porter, A.D., Delay, M.I., Warkup, C.C. (1998). The effects of age at slaughter, genotype and finishing system on the biochemical properties, muscle fibre type characteristics and eating quality of bull beef from suckled calves. *Animal Science*, 66: 341-348.

Montes, G.S. (1996). Structural biology of the fibres on the collagenous and elastic system. *Cell Biology*, 20: 15-27.

Peña, D. (2002). *Análisis de datos multivariantes*. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana de España, S. A. U.

Purslow, P.P. (1999). The intramuscular connective tissue matrix and cell-matrix interactions in relation to meat toughness. In Proceedings of the 45th international congress of meat science and technology, Yokohama, Japan, 210-219.

Purslow, P.P. (2005). Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Sci.*, 70: 435-447.

Robins, S.P., Shimokomaki S., Bailey J. (1973). The chemistry of the collagen cross-links. Age related changes in the reducible components of intact bovine collagen fibers. *Biochem. J.*, 131: 771-780.

Rowe, R.D. (1981). Morphology of perimysial and endomysial connective tissue in skeletal muscle. *Tissue Cell*, 13: 681-690.

Russell, B.C., Mcalister, G., Ross, I.S., Pethick, D. W. (2005). Lamb and sheep meat eating quality industry and scientific issues and the need for integrated research. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45: 465-467.

INVESTIGACION

Blanco *et al.*

Evaluación de colágeno tipo I [...]

Safari, E., Channon, H. A., Hopkins, D. L., Hall, D. J., Van De Ven, R. (2002) .A national audit of retail lamb loin quality in Australia. *Meat Science*, 61: 267-273.

Sinex, F.M. (1968). *Treatise on collagen*. G.N. Ramachandran, Ed. Vol. 2 B. Academic Press, New York.

Soria, L. y Corva, P. (2004). Factores genéticos y ambientales que determinan la ternera de la carne bovina. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, Vol. 12 n° 2: 73-88.

Teira, G. (2004). Actualidad y perspectivas de un componente principal de la calidad de carnes bovinas: la ternera. *Ciencia, Docencia y Tecnología* N° 28, Año XV.